

Dietary protein in the regulation of the somatotrophic axis

Citation for published version (APA):

van Vught, J. A. H. (2009). *Dietary protein in the regulation of the somatotrophic axis*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20091030jv>

Document status and date:

Published: 01/01/2009

DOI:

[10.26481/dis.20091030jv](https://doi.org/10.26481/dis.20091030jv)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

The somatotrophic axis, also known as the growth hormone (GH) - Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) axis, originates in the hypothalamus and pituitary gland. Through the central release of GH and peripheral production of IGF-1, the somatotrophic axis is involved in linear growth and intermediary metabolism. Disorders as visceral obesity and growth retardation in children are characterised by a low activity of the somatotrophic axis. Repeated injection of GH, also named GH therapy, decreases visceral adipose tissue, increases muscle mass and bone density and furthermore stimulates linear growth in children. In addition to GH therapy, sleep, physical activity and nutrition influences the endogenous GH secretion. The latter is investigated in this thesis from a neuroendocrinologic, physiologic and pathophysiologic perspective.

From literature it is known that oral or intravenous administration of AA is involved in the *neuroendocrine* regulation of the somatotrophic axis. Arginine in combination with lysine, has been shown to stimulate the GH release potently. Since AA are the building blocks of protein, it is likely that proteins, similar to AA, are involved in short term somatotrophic regulation. In our studies we investigated the GH promoting effects of a mixture of 20 AAs, reflecting a dietary protein compared with a mixture of arginine and lysine. In both conditions the same amounts of arginine and lysine were present. We found that ingestion of a mixture of AA is more potent in stimulating GH release than ingestion of a mixture of arginine and lysine, which indicates that in addition to arginine and lysine, other AAs are directly or indirectly involved in the observed stimulation of GH release. Subsequently, we investigated the influence of the AA mixture, partially hydrolysed and complete protein on their GH secretory capacity and concluded that the chain length of protein is not of pivotal value for the GH response, since GH responses were similar after ingestion of a mixture of single AAs, a hydrolysed protein and a complete protein (chapter 2). The above-mentioned studies suggest that the GH secretory response to dietary protein is dependent on ingestion of the amount and type of AAs. This indication resulted in a study investigating the GH secretory capacity of different protein sources. The GH secretion after ingestion of soy, gelatin, alpha lactalbumin and milk protein was investigated. Soy protein was hypothesized being the strongest GH stimulator among the proteins because of its relatively high content of arginine and lysine. However, this hypothesis was not confirmed by our study, in which we found that gelatin protein is a stronger GH stimulator than soy protein, alpha lactalbumin protein and milk protein. Alpha lactalbumin, milk and soy protein stimulate the GH response to a similar extent (chapter 3).

Since a typical meal consumed by humans consists of a mixture of 3 macronutrients and not of protein alone, the interaction of ingested carbohydrates and/ or fat with the GH promoting effect of protein is studied. We found that the somatotrophic effect of protein was eliminated when soy protein was ingested combined with carbohydrate and fat, however remained unchanged over 5 hours when protein was combined with either carbohydrate or fat. This indicates that in addition to protein, the combination of carbohydrate and fat plays a modulating role in the postprandial secretion of GH after ingestion of a meal (chapter 4 + 5).

In addition to the short term neuroendocrine effects of protein ingestion on GH secretion, we studied the long term effects of protein ingestion on the somatotrophic axis from a *physiological* perspective. Epidemiological observational cohort studies, each consisting of approximately 250 children, were used to investigate the associations between protein intake and in particular the amino acids arginine and lysine and linear growth, lean body mass and body fat mass in prepubertal and pubertal children over 3-6 years. The results of these studies indicate a positive relationship between arginine intake and linear growth and point into the direction that the intake of arginine and lysine, indeed is negatively associated with fat mass index (FMI) and positively with fat free mass index (FFMI). At the same time, also associations were found between total protein intake and FMI or FFMI, which indicates that there is an effect of arginine and lysine, but also an effect of protein intake in general (chapter 6 + 7).

At the level of the *pathophysiology* of the somatotrophic axis, we reviewed current used pharmacological tests to evaluate the activity of the somatotrophic axis in order to diagnose GH deficiency in children who are too small for their age (chapter 8). Children with GH deficiency receive GH therapy. Current tests are pharmacological, stimulating GH release directly via only one single pathway in the complex physiological regulation of GH secretion. Stimulation of GH release via one single pathway results in the induction of a high inter individual variation in test outcomes. In this thesis, a new test, the dietary protein test, is proposed. The use of dietary protein as a stimulator of GH secretion induces a more physiological way of stimulation, because oral ingestion of dietary protein affects GH secretion indirectly through multiple mechanisms, resulting in a lower inter individual variability of test outcomes compared with the unifactorial pharmacological stimuli traditionally used.

In order to investigate whether the somatotrophic effect of dietary protein is also present in (adult) hyposomatotropism, and whether ingestion of dietary protein can be used as a diagnostic tool to discriminate between adult hyposomatotropism and non-hyposomatotropism, we executed a study to compare the GH promoting effect of dietary protein in lean subjects (non-hyposomatotropic) and visceral obese subjects (hyposomatotropic). The hyposomatotropic state was confirmed by measuring the GH response to GHRH. This study shows that oral intake of a dietary

protein stimulates the GH secretion in lean as well as in visceral obese subjects. Ingestion of dietary protein showed to be an adequate method to discriminate between adult hyposomatotropism and non-hyposomatotropism, with a low inter individual variability compared to GHRH administration, and therefore may be an appropriate test in order to diagnose GHD (chapter 9).

Reduced basal GH concentrations are a typical characteristic in hyposomatotropism, however, protein ingestion stimulates the GH secretion in visceral obese subjects to concentrations comparable with GH concentrations in placebo-treated lean subjects with a normal functioning somatotrophic axis (chapter 9).

Based on the results reported in this thesis, it is concluded that the short term neuroendocrine activation of the somatotrophic axis by dietary protein intake is dependent on the AA composition of protein and the simultaneous intake of fat and carbohydrate, but independent of the chain length of protein or the intake of either carbohydrate or fat. Habitual dietary protein intake is associated with growth in height and body composition. Arginine intake in particular is positively associated with an increase in linear growth. Protein intake in general, as well as intakes of arginine and lysine are associated with a decrease in fat mass index and an increase in fat free mass index in children. Furthermore, dietary protein ingestion stimulates GH secretion in a physiological way, resulting in a lower inter individual variability of test outcomes compared with the unifactorial pharmacological stimuli traditionally used and therefore seems to be an appropriate test in order to decide starting GH therapy in children with GHD. Finally, based upon our findings that dietary protein ingestion restores the low GH concentrations in hyposomatotropism of visceral obesity, regular ingestion of milk or soy protein combined with either carbohydrates or fat can be a valuable strategy to restore the somatotrophic activity and concomitantly improve the body composition.

Samenvatting

De somatotrofe as, ook wel de groeihormoon (GH) / insulin-like growth factor-1 (IGF-1) as genoemd, heeft zijn oorsprong in de hypothalamus en hypofyse. GH wordt afgegeven door de hypofyse en stimuleert de afgifte van IGF-1 in de lever en spieren, wat invloed heeft op de lengtegroei en het intermediaire metabolisme. Lage GH afgifte komt onder andere voor bij individuen met viscerale obesitas en bij kinderen die te klein zijn voor hun leeftijd. Het herhaaldelijk injecteren van GH, ook wel GH therapie genoemd, leidt tot een daling van de viscerale vetmassa, verhoging van de spiermassa en botdichtheid, en tevens tot een toename van de lengtegroei bij kinderen. Naast het injecteren van GH kan de GH afgifte endogeen gestimuleerd worden door slaap, fysieke activiteit en door voeding. Dit laatste aspect is in dit proefschrift onderzocht vanuit een *neuro-endocrinologische, fysiologische en pathofysiologische* invalshoek.

Uit de literatuur is bekend dat orale of intraveneuze toediening van aminozuren (AA) de *neuro-endocriene* regulatie van de somatotrofe as beïnvloedt. Voornamelijk de combinatie van de AA arginine en lysine is bekend als een sterke stimulator van de GH afgifte. Eiwitten bestaan uit AA en daarom is het aannemelijk dat eiwitten, net als AA, betrokken zijn bij de korte termijn regulatie van de somatotrofe as. Allereerst hebben we onderzocht of een AA oplossing, waarin alle 20 AA van een eiwit aanwezig zijn, de GH afgifte sterker stimuleert dan een oplossing van arginine en lysine. In beide oplossingen waren gelijke hoeveelheden arginine en lysine aanwezig. We namen waar dat de afgifte van GH sterker was na inname van de AA oplossing dan na de arginine en lysine oplossing, wat duidt op een direct of indirect effect van ook andere AA dan arginine en lysine op de GH afgifte. Vervolgens onderzochten we het effect van ketenlengte van een eiwit op de GH afgifte. Hiertoe werd de GH afgifte na inname van de AA oplossing, gedeeltelijk gehydrolyseerd eiwit en compleet eiwit bepaald. Er was geen verschil in GH afgifte na de AA oplossing, het gehydrolyseerde eiwit en het complete eiwit, wat betekent dat de ketenlengte van een eiwit niet van invloed is op de GH afgifte (hoofdstuk 2).

Bovenstaande experimenten suggereren dat de aanwezigheid van bepaalde AA bepalend is voor de mate van GH afgifte. Deze aanwijzing resulteerde in de studie naar de invloed van verschillende eiwitten (en dus verschillende AA samenstellingen) op de afgifte van GH. De GH afgifte na inname van soja, gelatine, alphalactalbumine en melk eiwit werd vergeleken. De hypothese stelde dat soja eiwit de GH afgifte het sterkst stimuleert in vergelijking met andere eiwitten, omdat soja eiwit relatief rijk is aan arginine en lysine. Deze hypothese werd niet bevestigd door onze studie, waar we vonden dat na inname van gelatine eiwit de GH afgifte het sterkst

steeg in vergelijking met de andere eiwitten, en dat alpha lactalbumine, melk en soja eiwit in gelijke mate in staat zijn de postprandiale GH respons te verhogen (hoofdstuk 3).

Omdat eiwitten in het dagelijks leven worden ingenomen in combinatie met koolhydraten en vetten, is onderzocht of het effect van eiwitten op de stimulatie van GH afgifte ook aanwezig is wanneer eiwitten worden ingenomen in combinatie met koolhydraten en/ of vetten. In deze studies vonden we dat de respons van eiwit inname op de GH afgifte was verdwenen wanneer inname van eiwit werd gecombineerd met inname van koolhydraten en vetten. Dit respons werd echter niet beïnvloed wanneer inname van eiwitten werd gecombineerd met inname van koolhydraten of vetten. Deze bevindingen zijn een aanwijzing dat naast eiwitten, de aanwezigheid van koolhydraten en vetten bepalend is in de afgifte van GH na een maaltijd (hoofdstuk 4+5).

Naast de neuro-endocriene effecten van eiwit inname op de acute afgifte van GH hebben we de lange termijn effecten van eiwit inname en de inname van de AA arginine en lysine op de somatotrofe as bekeken vanuit een *fysiologisch* perspectief. In deze studies hebben we met behulp van twee databases, elk bestaande uit ongeveer 250 kinderen, mogelijke associaties bestudeerd tussen de inname van eiwitten en de specifieke AA arginine en lysine en de 3-6 jaars ontwikkeling van lichaamssamenstelling en lengtegroei bij prepuberale en puberale kinderen. In deze studies is een positieve associatie gevonden tussen de inname van arginine en de lengtegroei. Verder is gevonden dat de totale eiwit inname, net als de inname van de AA arginine en lysine, geassocieerd is met een afname van de vetmassa en een toename van de vet vrije massa (gecorrigeerd voor de lichaamslengte) wat duidt op een effect van arginine en lysine, maar ook op een effect van de totale eiwit inname op de lichaamssamenstelling (hoofdstuk 6+7).

Met betrekking tot de *pathofysiologie* van de somatotrofe as, hebben we in een overzichtartikel verschillende testen geëvalueerd, die de activiteit van de somatotrofe as weergeven (hoofdstuk 8). Deze testen worden gebruikt in het diagnostisch proces om GH deficiëntie vast te stellen bij kinderen die te klein zijn voor hun leeftijd. Kinderen met GH deficiëntie komen in aanmerking voor GH therapie. De afgifte van GH is complex, wat betekent dat deze op vele manieren wordt beïnvloed. De huidige gebruikte instrumenten zijn op farmacologische basis en stimuleren de afgifte van GH op slechts één manier, wat leidt tot een hoge inter-individuele variatie van de testuitslag. In dit proefschrift wordt een nieuwe test voorgesteld om GH deficiëntie vast te stellen. In deze test worden eiwitten oraal toegediend waarna de postprandiale GH respons bepaald wordt. Eiwitten stimuleren de GH afgifte op verschillende manieren, wat leidt tot een meer fysiologische wijze van GH stimulatie en daardoor tot een kleinere inter-individuele variatie van de testuitslag in vergelijking met de farmacologische testen.

Vervolgens hebben we onderzocht of de bovengenoemde effecten van eiwitten op de stimulatie van GH afgifte ook in populaties met een verminderde werking van de somatotrofe as (hyposomatotroof) te vinden zijn en of orale inname van eiwit gebruikt kan worden als diagnostisch instrument om een onderscheid te maken tussen personen met en zonder hyposomatotropisme (hoofdstuk 9). Hiertoe werden slanke volwassen personen (zonder hyposomatotropisme) en visceraal obese personen (hyposomatotroof) met elkaar vergeleken op de GH afgifte na inname van eiwitten. De mate waarin personen in staat zijn om GH af te geven werd gemeten door de GH afgifte na intraveneuze toediening van GH releasing hormone (GHRH test) te bepalen. Gebleken is dat de GH afgifte na eiwit inname, net als in slanke personen, is gestimuleerd in visceraal obese personen en dat deze stimulatie de verlaagde GH concentraties in visceraal obese personen verhoogt tot concentraties vergelijkbaar met de niet-gestimuleerde GH concentraties in slanke personen. Tevens hebben we ontdekt dat orale inname van eiwit een duidelijk onderscheidt maakt tussen mensen met hyposomatotropisme en mensen zonder hyposomatotropisme met een lagere inter individuele variatie van de testuitslag in vergelijking met de GHRH test. Hieruit concluderen we dat de eiwit test een geschikt instrument lijkt om GH deficiëntie te diagnosticeren (hoofdstuk 9).

Uit de resultaten beschreven in dit proefschrift kan worden geconcludeerd dat het korte termijn effect van eiwitten in de voeding op de afgifte van GH af hangt van de eiwit bron en de aanwezigheid van koolhydraten en vetten in de voeding, maar niet af hangt van de eiwit ketenlengte of de aanwezigheid van koolhydraten of vetten. Dagelijkse eiwit inname is geassocieerd met groei in de lengte en breedte. Arginine inname is geassocieerd met groei in de lengte. Inname van eiwitten en inname van arginine en lysine zijn geassocieerd met een afname van de vet massa index en toename van de vetvrije massa index. Verder werd gevonden dat voedingseiwit de GH afgifte fysiologisch stimuleert, wat resulteert in een lage inter individuele variabiliteit van de testuitslag, vergeleken met de huidige farmacologische testen. Eiwit inname lijkt dus een geschikt diagnostisch instrument om GH deficiëntie vast te stellen. Tenslotte, gebaseerd op de vinding dat voedingseiwitten de lage GH concentraties herstellen in hyposomatotropisme bij visceraal obesitas, kan gesteld worden dat regelmatige inname van melk of soja eiwit, gecombineerd met koolhydraten of vetten een adequate strategie is om de verminderde werking van de somatotrofe as in visceraal obesitas te herstellen met als doel de lichaamssamenstelling te verbeteren.